第44卷 第1期
2001年2月

昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA

Vol.44，No.1
Feb.，2001

小卷蛾线虫脱水休眠的形态与耗氧量

陈松笔[1]，杨怀文[1]，蒋书楠[2]

（1. 中国农业科学院生物防治研究所，北京 100081；2. 西南农业大学植物保护系，重庆 400716）

摘要：报道了小卷蛾线虫 *Steinernema carpocapsae*（BJ品系）在高渗液中脱水进入休眠的形态变化和耗氧量。结果表明：脱水线虫的形态变化与耗氧量相关，线虫在高渗液第30 h内，脱水程度越强，耗氧量越低。线虫脱水进入休眠从形态上分为螺旋、鞘壁分离和侧线弯曲三个阶段。在螺旋阶段脱水线虫代谢开始减慢，耗氧量较对照减少了14%。在鞘壁分离阶段脱水线虫开始进入休眠，耗氧量较对照减少了65%，加水后线虫在10 min内100%复苏。在侧线弯曲阶段Ⅰ脱水线虫进入了深度休眠，耗氧量较对照减少了79%，加水后在30 min内100%复苏。

关键词：小卷蛾线虫BJ品系；脱水休眠；形态变化；耗氧量

中图分类号：S476.15　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296（2001）01-0062-05

脱水休眠是指生物脱出体内一定量水分而导致的休眠[1]。生物脱水休眠在17世纪就已为人所知[2]，线虫的脱水休眠现象最早发现于植物线虫[3~6]。脱水休眠植物线虫对不良环境有较高的抗性[7]，其生化特性表现为新陈代谢降低，耗氧量减少[4,8,9]。

在60年代已经开展昆虫病原线虫对土壤干燥的适应性研究[10]，但对其脱水休眠的研究是在80年代中后期[11,12]。由于昆虫病原线虫对干燥和高温的抵抗力低，需要在低温和高湿下储存[13,14]，而长期的高湿储存，常出现真菌污染而导致储存线虫死亡，运输中需避免干燥和25℃以上的温度，这些生物学特性严重阻碍了昆虫病原线虫生物杀虫剂的推广和发展。人们希望通过脱水休眠的研究能够解决昆虫病原线虫不耐高温和不抗干燥的难题，为常温储存和常温长途运输休眠线虫提供科学依据，促进此类生物杀虫剂的更广泛应用。

目前在实验室已能诱导昆虫病原线虫脱水进入休眠，但还没有成功大量生产脱水休眠昆虫病原线虫的报道[15]，原因是除了大量生产休眠线虫技术不完善外，还没有直观和简便判断昆虫病原线虫脱水休眠的指标。若用新陈代谢降低，耗氧量减少等生化特性来判断线虫的脱水休眠，则既不直观简便，又费时，难以为生产所接受。而生物的形态由其生理结构组成所决定，故是生物很稳定的特征，用其来判断线虫的脱水休眠既直观简便，又快速，容易为生产接受，但用来判断脱水休眠的形态特征必须与线虫的生化特性相关。

提出把形态特征作为判断昆虫病原线虫脱水休眠的标准尚未有过报道，但关于脱水休眠线虫的形态特征，Hara和Womersley等曾作过观察，他们采用不同方法使线虫体内水分蒸发胁迫线虫脱水进入休眠，休眠后线虫形态有螺旋状、弯曲尾部或体躯稍为弯曲等[15~17]，但他们却未测定脱水休眠线虫的耗氧量，故哪一种形态的休眠线虫是代谢程度达到最低，尚属

基金项目：国家自然科学基金（39870114）；农业部农作物病虫草害生物防治资源研究与利用重点开放实验室资助项目
收稿日期：1998-09-17；接受日期：1998-12-25

未知，加上这些脱水方法耗时长，所以至今仍未被生产所采用。本文第一次采用高渗液胁迫小卷蛾线虫快速脱水进入休眠，详细研究脱水休眠线虫的形态特征和耗氧量，揭示了线虫脱水进入休眠的进程，为大量生产脱水休眠线虫提供一个可靠的形态指标。

1　材料和方法

1.1　大蜡螟幼虫和小卷蛾线虫 BJ 品系的制备

大蜡螟幼虫为室内人工饲料饲养。小卷蛾线虫 BJ 品系侵染期线虫的繁殖采用 Dutky 的大蜡螟活体繁殖法[18]。

1.2　鉴别线虫脱水休眠的初始方法

以线虫在高渗液中体皱缩，细毛针触之不动，加水能复苏为初始鉴别线虫脱水进入休眠的特征。

1.3　脱水线虫的形态变化观察和复苏率检查

在 250 mL 的三角瓶里，配制 SB 高渗液 20 mL，投入小卷蛾线虫 BJ 品系约 2.5×10^6 条，每隔 30 min 取样，在光学显微镜下观察线虫脱水进入休眠的过程，并记录其形态变化。同样每隔 30 min 取样加水，检查脱水线虫的复苏率。试验设 30 个处理，每处理观察 100 条线虫，检查 300 条脱水线虫的复苏状况，取未脱水处理线虫为对照。

1.4　脱水线虫的耗氧量测定

在 250 mL 的三角瓶里，配制 SB 高渗液 20 mL，投入小卷蛾线虫 BJ 品系约 2.5×10^6 条，每隔 30 min 取样，测定脱水线虫的耗氧量，耗氧量的测定采用氧电极法[19]，取未脱水处理线虫为对照。

2　结果与分析

2.1　脱水线虫的形态变化与复苏率

对照对外界刺激敏感，触动反应活跃，鞘壁不分离，食道未扭曲变形，体躯光滑，没有皱纹（图版Ⅰ：1，2）。

在高渗液里线虫脱水进入休眠，其体躯在脱水休眠中要经历一个有序的收缩过程，本研究观察发现，按其形态的明显变化可分为螺旋、鞘壁分离和侧线弯曲三个阶段。

（1）螺旋阶段（图版Ⅰ：3）出现在线虫进入高渗液的第 4～6 h。个体分散的线虫绞缠在一起成聚集状，直线状的体躯卷曲呈螺旋形，鞘与体壁分开不明显，体躯没有发生皱缩，用细毛针触之，能动。

（2）鞘壁分离阶段（图版Ⅰ：4，5）出现在线虫进入高渗液的第 6～9 h。线虫体躯由螺旋状变为略弯曲，尾部呈钩状，有一小部分线虫还发生不规则的扭曲，鞘壁分开明显，体躯稍发皱。线虫用细毛针触之不动，加水后，在 10 min 内能 100% 复苏，表明脱水线虫开始进入了休眠阶段。

（3）侧线弯曲阶段Ⅰ（图版Ⅰ：6，8）出现在线虫进入高渗液的第 10～30 h。脱水线虫纵向和横向收缩显著，体躯明显发皱，弯曲程度稍加大，体躯侧线明显弯曲呈波浪状，食道

扭曲显著。线虫加水后，能在 30 min 内 100%复苏。

（4）侧线弯曲阶段Ⅱ出现在线虫进入高渗液的第 31～48 h。其外形与侧线弯曲阶段Ⅰ相同，加水后线虫复苏时间为 2 h，有 4%的线虫死亡。

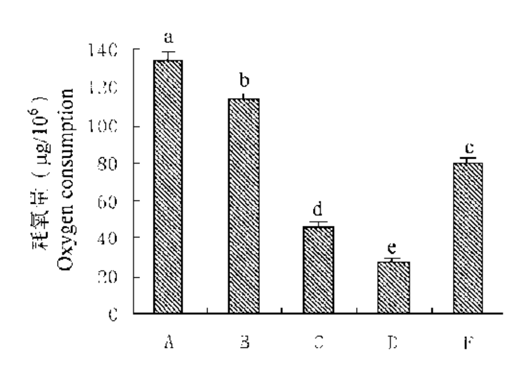


图 1 脱水线虫的耗氧量

Fig. 1 Oxygen consumption of dehydrated nematodes

A. 对照 control; B. 螺旋阶段 coil; C. 鞘壁分离阶段 sheath-cuticle separation; D. 侧线弯曲阶段Ⅰ curved lateral lines Ⅰ; F. 侧线弯曲阶段Ⅱ curved lateral lines Ⅱ

2.2 脱水线虫的耗氧量

从图 1 可看出脱水线虫的形态变化与耗氧量相关，线虫在高渗液第 30 h 内，脱水程度越强，耗氧量越低。对照的耗氧量为 134.4 微克分子氧/10^6 条线虫，当脱水线虫进入螺旋阶段，耗氧量较对照减少了 14%，其代谢开始减慢。当脱水线虫进入鞘壁分离阶段，耗氧量减少幅度增大，为 65%，线虫开始进入休眠。当脱水线虫进入侧线弯曲阶段Ⅰ，耗氧量降到最低限度，较之对照减少了 79%，此时线虫进入了深度的休眠阶段。脱水线虫进入侧线弯曲阶段Ⅱ，线虫耗氧量回升，超过侧线弯曲阶段Ⅰ的 52.1 微克分子氧/10^6 条线虫。

3 讨论

休眠现象是生物对外界不利环境条件如严寒、酷热、干旱、食物不足等的适应，假如不利条件过长，那么生物体可把所有的新陈代谢水平降低到最低限度来抵抗不良环境。休眠的最高程度称为潜生状态，休眠的程度越高，其对外界不良环境的抗性越强[6,14,20,21]。本研究在高渗液中胁迫线虫脱水进入侧线弯曲阶段Ⅰ获得代谢最低的深度休眠线虫，此休眠线虫比未脱水处理线虫具有较高的抗高温和抗干燥能力，这种脱水处理对线虫的发育繁殖没有造成不良影响，且脱水休眠线虫复苏后对大蜡螟有较高的侵染力[22]，如果线虫留在高渗液里继续脱水，虽然其外形没有再发生变化，但复苏时间延长，且不能全部复苏，耗氧量回升。此阶段不视为深度休眠阶段。其耗氧量的回升有可能是某些脱水线虫细胞原生质失水过多，发生了氧化磷酸化解偶联现象，而导致呼吸强度升高[23]；或者是某些脱水线虫组织创伤而提高呼吸作用，增强其生物合成的能力，以形成愈伤组织去修补伤处[24]。此结果提示我们在高渗液里线虫脱水进入侧线弯曲阶段Ⅰ时，就应把线虫与高渗液分开，避免线虫继续脱水而受伤，这样可得到深度休眠的脱水线虫。

本研究结果指出小卷蛾线虫经高渗液处理后，线虫的形态发生变化，当变化到侧线弯曲阶段Ⅰ时，它就进入了深度休眠，此形态指标为用高渗液大量生产脱水休眠的小卷蛾线虫提供了直观、简便的检测手段。此形态特征与 Hara 等采用使线虫水分蒸发 4 天胁迫线虫脱水休眠的形态近似[16]，休眠后的线虫体躯稍为弯曲，但不同于 Womersley 报道的形态特征，他置小卷蛾线虫于 1%的琼脂糖中，然后在 97%的环境中干燥，线虫缓慢脱水后也能进入休眠，休眠后的线虫形态为螺旋状[15]。螺旋也是植物线虫对干旱环境的一种形态适应，这种形态能

够成功地诱导线虫脱水进入休眠[17,25]，但目前没有足够的证据表明线虫脱水进入休眠后保持哪一种形态最好。本研究认为脱水休眠线虫保持的形态哪一种最好，应从三个方面来评价，一是休眠线虫的耗氧量是否最低，二是休眠线虫的抗性是否提高，三是休眠线虫复苏后活力是否受到不良影响。

致谢　承蒙简恒、刘峥副研究员，杨秀芬、栾显群助理研究员和邓霞女士的帮助，在此谨表谢意。

参　考　文　献（References）

[1] Garlid K D. Aqueous phase structures in cell and organelles. In: Drost-Hansen W，Clegg J S eds. Cell- Associated Water，New York: Academic Press，1979，293～361

[2] Keilin D. The problem of anabiosis or latent life: history and current concepts. Proc. Roy. Soc. B，1959，150: 149～191

[3] Fielding M J. Observation on the length of dormancy in certain plant-infecting nematodes. Proc. Helminth. Soc. Wash.，1951，18: 110～112

[4] Van Gundy S D. Factors in survival of nematodes. Ann. Rev. Phytopath.，1965，3: 43～68

[5] Crowe J H. Anhydrobiosis: An unsolved problem. American Naturalist，1971，105: 563～573

[6] Demeure Y，Freckman D W. Recent advances in the study of anhydrobiotic nematodes. In: Zuckerman B M，Rohde R A eds. Plant Parasitic Nematodes，Vol 3，New York: Academic Press，1981. 205

[7] Glazer I，Orion D. Study on anhydrobiosis of *Pratylenchus thornei*. J. Nematol.，1983，15（3）: 333～338

[8] Cooper A F，Van Gundy S D. Metabolism of glycogen and neutral lipids by *Aphelenchus avenae* and *Caenorhabditis* sp. in aerobic microaerobic，and anaerobic environments. J. Nematol.，1970，2: 305～315

[9] Evans A A F，Perry R N. Survival strategies in nematodes. In: Croll N A ed. The Organization of Nematodes，New York: Academic Press，1976. 383～424

[10] Moore G E. Bionomic of an insect-parasitic nematode. J. Kansas Entomol. Soc.，1965，38: 101

[11] Ishibashi N，Tojo S，Hatate H. Desiccation survival of *Steinernema feltiae* str. DD-136 and possible desiccation protectants for foliage application of nematodes. In: Ishibashi N ed. Recent Advances in Biological Control of Insect Pests by Entomogenous Nematodes in Japan，Japan: Ministry of Education Press，1987. 139

[12] Gaugler R. Ecological considerations in the biological control of soil-inhabiting insects with entomopathogenic nematodes. Agric. Ecosys. Environ.，1988，24: 351

[13] Scher H B. Innovation and developments in pesticide formulations: an overview. In: Cross B，Scher H B eds. Pesticide Formulations Innovation and Developments，Washington，D C: American Chemical Society Press，1988. 1

[14] Georgis R. Formulation and application technology. In: Gaugler R，Kaya H K eds. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. Boston: CRC Press，1990. 173～191

[15] Womersley C Z. Dehydration survival and anhydrobiotic potential. In: Gaugler R，Kaya H K eds. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. Boston: CRC Press，1990. 117～137

[16] Hara A H，Kaya H K. Toxicity of selected organophosphate and carbonate pesticides to infective juveniles of the entomogenous nematode *Neoaplectana carpocapsae*（Rhabditida: Steinernematidae），Environ. Entomol.，1983，12: 496

[17] Wormersly C Z，Ching C. Natural dehydration regimes as a prerequisite for the successful induction of anhydrobiosis. J. Exp. Biol.，1989，143: 359

[18] Dutky S R，Thompson J V，Cantwell G E. A technique for the mass propagation of the DD-136 nematode. J. Insect Pathol.，1964，6: 417～422

[19] 张刚应，谢汝创. 昆虫病原线虫的氧气消耗量测定. 见：中国昆虫学会编. 中国昆虫学会成立五十周年纪念暨学术讨论会论文摘要集. 北京：中国昆虫学会，1994. 553

[20] Freckman D W, Womersley C. Physiological adaptation of nematodes in Chihuahuan desert soils. in New Trends in Soil Biology, Proc. Ⅷ Int. Coll. Soil Zool. 1983, 395

[21] Womersley C. A reevaluation of strategies employed by nematode anhydrobiosis in relation to their environment. In: Veech J, Dickson D W eds. Vistas on Nematology. Hyattsville: Society of Nematologists Press, 1987. 165

[22] 陈松笔，杨怀文，蒋书楠. 脱水休眠对斯氏线虫BJ品系活力的影响. 中国生物防治，1998，14（3）：112～115

[23] 李勤报，梁厚果. 水分胁迫下小麦幼苗呼吸代谢的改变. 植物生理学报，1986，12（4）：379～387

[24] 王毅兰. 植物的呼吸作用. 见：芮辉民著. 植物生理学. 北京：北京农业大学出版社，1994. 84～105

[25] Demeure Y, Freckman D W, Van Gundy S D *et al*. Anhydrobiotic coiling of nematodes in soil. J. Nematol., 1979, 11（2）：189～195

Morphology and oxygen consumption of *Steinernema carpocapsae* in anhydrobiosis

CHEN Song-bi[1], YANG Huai-wen[1], JIANG Shu-nan[2]

（1. Institute of Biological Control, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China;

2. Department of Plant Protection, Southwest Agricultural University, Chongqing 400716, China）

Abstract: The relationship between morphological change and oxygen consumption of infective anhydrobotic juveniles of *Steinernema carpocapsae*（BJ strain）was studied in the laboratory. The results showed the nematodes treated in SB high osmotic solution presented different morphologies. The morphological changes included three stages: coil, sheath-cuticle separation and curved lateral lines. Metabolism of the coil nematodes went down and their oxygen consumption decreased by 14%. Oxygen consumption of the nematodes in sheath-cuticle separation stage decreased by 65% when they began to enter anhydrobiotic state. All of them revived in water for 10 minutes. Oxygen consumption of the nematodes showing curved lateral lines decreased by 79%, indicating they entered into futher anhydrobiotic state. These nematodes revived entirely after 30 minutes in water.

Key words: *Steinernema carpocapsae*; anhydrobiosis; morphological change; oxygen consumption

图版说明（Explanation of Plate）

图版Ⅰ（Plate Ⅰ）

1. 对照 control（×200）;
2. 对照的食道 esophagus of control（×1 000）
3. 脱水线虫的螺旋阶段 coil stage of dehydration nematode（×200）;
4～5. 脱水线虫的鞘壁分离阶段 sheath-cuticle separation stage of dehydration nematode（×300）;
6. 脱水线虫的侧线弯曲阶段｜ curved lateral lines ｜ of dehydration nematode（×1 000）;
7. 侧线弯曲阶段｜线虫扭曲的食道 distorted esophagus of nematode in curved lateral lines ｜（×1 000）;
8. 侧线弯曲阶段｜线虫弯曲的体躯 curved body of nematode in curved lateral lines ｜（×200）

CHEN Song-bi *et al*.: Morphology and oxygen consumption of *Steinernema carpocapsae* in anhydrobiosis Plate I

1 2 3 4 5 6 7 8

图版说明见文后（Explanation at the end of the text）